Lane Medical Library

Aus dem Tierhygienischen Institut der Tierärztlichen Fakultät der Universität München.
Vorstand: Professor Dr. Wilhelm Ernst.

Zur Frage des Nachweises der Niedererhitzung der Milch mit Hilfe der Serumnacherhitzung.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät München
eingereicht von

cand. med. vet. Thomas Fürbacher
aus Weiden.

München 1935.

Druck St. Otto-Verlag, G. m. b. H., Bamberg.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153312_0106

Meinen lieben Eltern.

Inhaltsübersicht.

	Seite
Einleitung	5
I. Gesetzliche Grundlagen	6
II. Methoden des Nachweises	7
III. Eigene Untersuchungen	12
1) Methode der Eiweißkoagulation durch Nacherhitzung des Serums	12
2) Methode mittels Prüfung der Oxydierbarkeit von organischen Substanzen	23
IV. Zusammenfassung	25
Literatur	29
Lebenslauf	31

Da die Milch auf Grund ihrer natürlichen Zusammensetzung als flüssiges Nährmittel durch bakterielle Zersetzung leicht verdirbt, und damit große Werte unserem Volke verloren gehen, ferner in ihr auch krankmachende Keime von Mensch und Tier enthalten sein können, mühte man sich frühzeitig, Verfahren ausfindig zu machen, um die Schadensmöglichkeiten auf ein Minimum einzudämmen.

So einfach eine solche Frage zu lösen schien, so schwer war die Lösung in der Praxis durchzuführen, denn alle vorgeschlagenen physikalischen oder chemischen Verfahren veränderten die Milch so sehr, daß sie für viele Nutzungen nicht mehr brauchbar war, oder es waren die Verfahren nicht für eine Massenbehandlung geeignet.

Als geeignete Verfahren kommen solche in Frage, die mit größter Sicherheit alle pathogenen Keime und so weit möglich Saprophyten abtöten, dabei aber die Rohmilcheigenschaften tunlichst unbeeinflußt lassen. Diese zwei Erfordernisse erfüllt jedoch kein Verfahren in zufriedenstellender Weise. Man wählt daher Verfahren, die eine Keimarmut gewährleisten, und die Veränderungen der Milch auf ein Minimum einschränken. Ein derartiges Verfahren stellt z. B. die Dauererhitzung dar, worunter man ein halbstündiges Erhitzen auf 60 bis 65 Grad versteht. Die Haltbarmachung geschieht dabei ohne allzu wesentliche Veränderung des Frischcharakters. Eine Keimfreiheit wird allerdings durch diese Methode bekanntlich nicht bewirkt, wohl aber eine Keimarmut, das heißt eine Reduktion der Keimzahl um 98 bis 99 Prozent.

Zeller, Wedemann, Lange und Gildemeister (26*) prüften im Reichsgesundheitsamt die durch die Niederpasteurisierung hervorgerufene Abtötung der Seuchenerreger. Sie fanden auf Grund ihrer Untersuchungen, daß durch diese Erhitzung das Maul- und Klauenseuche-Virus, Bangbazillus, Colibakterien, Erreger der Typhus- und Paratyphusgruppe ganz, Mastitisstreptokokken und Tuberkelbazillus zum großen Teile abgetötet werden.

*) Die in runden Klammern beigesetzten Ziffern beziehen sich auf die am Schlusse der Arbeit angeführten Literaturangaben.

I. Gesetzliche Unterlagen.

Die gesetzliche Grundlage für die Durchführung der Niederpasteurisierung bilden das Reichsviehseuchengesetz vom 26. Juni 1919 (15), und das **Reichsmilchgesetz vom 31. Juli 1930** (13).

Im § 17, Absatz 5 des Reichsviehseuchengesetzes (15) sind Maßnahmen angegeben über Regelung der Einrichtung und des Betriebes von Molkereien, insbesondere für Sammelmolkereien das Verbot der Abgabe oder der sonstigen Verwertung von Magermilch und anderen Milchrückständen, sofern nicht vorher eine Erhitzung bis zu einem bestimmten Wärmegrad und für eine bestimmte Zeitdauer stattgefunden hat.

In § 28, Absatz 3 der Ausführungsbestimmungen sind als ausreichende Erhitzung der Milch anzusehen:

a) Erhitzung über dem offenen Feuer bis zum wiederholten Aufkochen,

b) Erhitzung durch unmittelbar oder mittelbar einwirkenden strömenden Wasserdampf auf 85 Grad,

c) Erhitzung im Wasserbad, und zwar entweder auf 85 Grad für die Dauer einer Minute, oder unter den von der Landesregierung näher zu bestimmenden Voraussetzungen auf 70 Grad für die Dauer einer halben Stunde.

Durch die Verordnung des Reichsministeriums des Innern vom 28. November 1930 (27) wurde auch die Erhitzung auf 60—63 Grad für die Dauer einer halben Stunde zugelassen.

Nach dem Reichsmilchgesetz vom 31. Juli 1930 (13) und seinen Ausführungsbestimmungen im Reichsgesetzblatt I vom 22. Mai 1931 (14) gelten als anerkannte Pasteurisierungsverfahren:

a) Dauererhitzung auf 63 bis 65 Grad auf die Dauer von mindestens einer halben Stunde in behördlich zugelassenen Einrichtungen und unter den von den obersten Landesbehörden näher zu bestimmenden Voraussetzungen.

b) Momenterhitzung in dünner Schicht oder feiner Verteilung auf mindestens 85 Grad in behördlich zugelassenen Apparaten, die die Erhitzung für die gesamte Milchmenge sichern, und eine ständige Ueberwachung der Temperatur ermöglichen. Die Reichsregierung kann niedrigere Mindesttemperaturen für bestimmte Verfahren zulassen, wenn durch diese der Zweck der Pasteurisierung erreicht wird.

c) Hocherhitzung durch mittelbar einwirkenden Wasserdampf im Wasserbad auf die Dauer von mindestens einer Minute oder durch andere von der Reichsregierung zugelassene Verfahren auf mindestens 80 Grad.

II. Verschiedene Methoden des Nachweises.

Durch die Ueberwachungsmaßnahmen im Molkereibetrieb ist eine gewisse Gewähr für die sachgemäße Durchführung der Dauerpasteurisierung gegeben. Der Nachweis einer vorschriftsmäßig vorgenommenen Dauerpasteurisierung in Handelsmilch ist aber sehr schwierig.

Wir haben demnach gesetzliche Vorschriften über Milcherhitzung in den 2 genannten Gesetzen, die bei Handelsmilch oder bei rückgelieferter Magermilch nicht in wünschenswertem Maße überprüft werden können. Wohl kann man durch die Proben zum Nachweis der Peroxydasen rohe und hoch erhitzte Milch unterscheiden, nicht aber mit gleich annähernder Sicherheit den Nachweis der dauerpasteurisierten Milch führen. Allein schon die zahlreichen Methoden, die für solchen Nachweis schon versucht wurden, sprechen für die vorhandenen Schwierigkeiten. Da durch die Erhitzung die verschiedensten Elemente der Milch eine Veränderung erleiden, sei es im Verteilungszustande oder im chemischen Gefüge, hat sich eine große Anzahl Verfahren herausgebildet. Man kann nach Zeller (25) die verschiedenen Nachweismethoden einteilen in

1. mikroskopische, bakteriologische und serologische Methoden.
2. physikalische Methoden,
3. Fermentmethoden,
4. Eiweißmethoden.

1. Die mikroskopische, bakteriologische, serologische Methode.

Hekma (5) versuchte mittels Farblösung (Trypanblaulösung) eine Differenzierung der gefärbten Zellen von roher, dauerpasteurisierter und gekochter Milch zu erreichen. Mit Hilfe der Trommsdorffröhrchen bekam er durch Zentrifugieren einen Zellenbodensatz, den er dann mikroskopisch prüfte. Dabei fand er bei roher Milch große ungefärbte Zellen, bei hocherhitzter Milch stark gefärbte Zellen, und bei Erhitzung auf 63 Grad, 10 bis 30 Minuten lang, schwach gefärbte Zellen.

Ferner wurde mittels Plattenverfahren die Zahl der nach der Dauerpasteurisierung vorhandenen Keime festgestellt. Dabei ergab sich, daß von den in der Rohmilch vorhandenen Keimen nach der halbstündigen Dauerpasteurisierung auf 63 Grad etwa 98 bis 99 Prozent zerstört wurden (nach Zeller (25)).

Fooy (zitiert nach Zeller) färbte Sedimentausstriche mit Methylenblaulösung und prüfte die Färbung der Kerne und des Plasmas. Demeter (zitiert nach Zeller) verband zum Nachweis das Plattenverfahren mit der mikroskopischen Zählmethode und der Peroxydasenprobe, und glaubte, annähernd rohe, dauerpasteurisierte und hocherhitzte Milch unterscheiden zu können.

Auch die Coliprobe wurde von einigen angewandt. Sie ist aber von vorneherein nichtig, da nach Zeller (25) Colistämme gefunden wurden, die die Temperatur von 63 Grad überstehen, also nur zum Nachweis roher und gekochter Milch verwendet werden könnten.

2. Die physikalischen Methoden.

Hier bildet einen Anhaltspunkt die verschiedene Aufrahmung des Fettes. Weigmann (23) fand, daß die Aufrahmung einer dauerpasteurisierten Milch in Bezug auf Rahmschichthöhe und Lockerheit der Rahmschicht sich am günstigsten bei 61 Grad einstellt. Diese Wirkung beruht auf der Klebkraft der Milchkügelchenhülle. Je nach der Temperatur der Milch ist die Klebrigkeit der Fettkügelchenhülle verschieden groß. Nach Weigmann wird die Aufrahmung beeinträchtigt durch Ueberschreitung der Pasteurisierungstemperatur von 63 Grad Celsius.

Orla Jensen (11) gab die Kremometrische Methode an. Diese stützt sich auf die Feststellung eines Milch-Agglutinins, das die Aufrahmung der Milch dadurch beschleunigt, daß es die Fettkügelchen zu Häufchen zusammenballt, wodurch diese dann schneller emporsteigen, als die einzelnen Fettkügelchen. Dieses Agglutinin wird durch die Pasteurisierung abgeschwächt, daher eine langsamere Aufrahmung. Dabei wird das Verhältnis der Aufrahmungshöhe verdünnter und unverdünnter Milch in einer bestimmten Zeit festgestellt. Dieses Verhältnis ist kleiner als 1 bei Rohmilch, und bei Milch, die unter 61 Grad erhitzt ist. Es ist größer als 1 bei Milch, die über 61 Grad erhitzt ist.

Ein Verfahren mittels einer eineinhalbprozentigen Meerschweinchenblutkörperchenaufschwemmung haben Schern und Gorli (19) ausgearbeitet. Diese Methode beruht auf der Beobachtung des Verhaltens roter Blutkörperchen gegenüber roher,

pasteurisierter und gekochter Milch. Zu 1 ccm Milch wurde ein Tropfen dieser Aufschwemmung gegeben. Die beiden Flüssigkeiten wurden geschüttelt und die Versuchsröhrchen zwei Stunden ins Wasserbad (38 bis 40 Grad Celsius) gebracht. Dabei ergab sich folgender Befund:

Bei roher Milch: In der Gegend der Rahmschicht ein rosaroter Ring. Die übrige Milch hat natürliche Farbe. Milch, die auf 63 Grad und darüber erhitzt ist, weist einen roten Bodensatz mit zackigen Rändern auf. Oft findet sich auch ein rötlicher Ring in der Rahmschicht. Charakteristisch ist der deutliche Bodensatzring.

Bei gekochter Milch nur roter Bodensatz, kein Ring in der Rahmschicht. Diese Methode wurde von mehreren Autoren ausgebaut, verbessert und abgeändert.

Hock (6) hat mit seiner Methode die Menge des abgeschiedenen Labserums geprüft, und zwar bei verschiedenen Erhitzungsgraden der Milch. Er gibt eine bestimmte Maßzahl an. Eine höhere Menge Serum als die angegebene weist darauf hin, daß die Milch roh und unter 60 Grad erhitzt ist. Eine geringere Menge Serum spricht für höhere Erhitzung. Ein modifiziertes Verfahren, und zwar mit Bleiserum probte Meyer (10) aus. Er verneinte jedoch die Brauchbarkeit dieser Methode. Auch das Hock'sche Verfahren wurde wegen seiner Einfachheit in der Ausführung von verschiedenen Seiten nachgeprüft. Kuhlmann (9) hat durch Untersuchungen im Reichsgesundheitsamt sowohl das von Schern-Gorli angegebene Verfahren als auch das Hock'sche Verfahren nachgeprüft. Auf Grund seiner Untersuchungen bejaht er die Verwendbarkeit der ersteren, verneint aber die der letzteren Methode.

3. Fermentmethoden.

Auch die Fermente erleiden durch die Erhitzung eine mehr oder weniger starke Schädigung, ja werden sogar zum Teil bei höheren Graden vollständig zerstört. Auf diese Erfahrungstatsache gründen sich die verschiedenen Fermentmethoden.

a) Die Aldehydkatalaseprobe nach Schardinger (18).

Schardinger stellte fest, daß eine der Milch zugesetzte formalinhaltige Methylenblaulösung bei roher Milch entfärbt wird, bei gekochter Milch nicht. Das die Entfärbung bewirkende Ferment ist also bei der gekochten Milch bereits abgetötet. Koning (9), Seligmann und Barthel (zitiert nach Zeller) wiesen bereits darauf hin, daß bei pasteurisierter Milch je nach der Erhitzungs-

temperatur die Reduktion der Methylenblau-Formalinlösung mehr oder weniger verlangsamt wird. Darüber wurden im Tierhygienischen Institut der Universität München von Seberich (20) und Renner (16) Untersuchungen vorgenommen. Beide bejahten die Brauchbarkeit ihrer modifizierten Schardingerreaktion für den Nachweis der Dauerpasteurisierung. Sie verwendeten eine stark vermehrte Methylenblau-Lösung und nahmen als Reaktionstemperatur 60 Grad (statt 45 bis 50 Grad). Dabei zeigte sich, daß die modifizierte Schardingerreaktion bei 60 Grad geschädigt wird, und bei 63 bis 65 Grad negativ verläuft, während normalerweise die Schardingerreaktion erst bei 68 Grad negativ wird.

b) Peroxydasenprobe. Diese Probe kann wohl zum Nachweis roher und gekochter Milch verwendet werden, nicht aber zum Nachweis dauerpasteurisierter Milch. Die Peroxydasen gehen erst bei 75 Grad zugrunde (Ernst (3)).

Auf 63 bis 65 Grad dauerpasteurisierte Milch wird sich bei dieser Probe wie Rohmilch verhalten.

c) Amylasenprobe. Verschiedene Autoren wiesen nach, daß die Amylase bei einer Erhitzung bis zu 60 Grad eine halbe Stunde lang bereits vernichtet sei. Rothenfußer (17) hat nun eine Methode ausgearbeitet, um auch mittels der Amylasenreaktion Anhaltspunkte für die Erhitzung zu erhalten. Er stellte fest, daß die Amylase durch Bleisalze nicht gefällt wird, sondern im Bleiserum gelöst bleibt. Bei diesem klaren Serum konnte er den stufenweisen Stärkeabbau gut verfolgen. Bei roher Milch zeigt sich Gelbfärbung, bei Braunfärbung ist die Milch längere Zeit auf etwa 55 Grad erhitzt. Rotviolettfärbung zeigt schon auf 60 bis 63 Grad hin. Violettfärbung weist immer auf eine Behandlung hin, die in der Wirkung einer Dauerpasteurisierung entspricht (Rothenfußer). Meyer (10) prüfte die Methode und beurteilte sie günstig, und arbeitete zugleich eine modifizierte Rothenfußersche Amylasenreaktion aus.

4. Eiweißmethode.

Da der Fermentgehalt der Milch starken Schwankungen unterliegt, außerdem manche Fermente durch bestimmte Temperaturen bereits ganz zerstört sind, hat man einen weiteren Bestandteil der Milch als Angriffspunkt genommen, nämlich die Eiweißstoffe. Wedemann (22) benützte für seine Untersuchungen ein spezifiziertes Essigsäureserum, nämlich das Tetraserum nach Pfyl und Turnau (12). Weinstein (24) hat mit seiner Albuminprobe durch Erhitzen geronnenes Eiweiß mit Hilfe der

Trommsdorffsedimentprobe festgestellt. Von 60 Grad ab wird das Albumin der Milch bereits verändert und koaguliert. Seine Ergebnisse der Sedimentbildung deckten sich mit den Ergebnissen der Schardinger-Reaktion. Nach Zeller (25) kann aber die Albuminprobe Weinsteins keine Verwendung finden, da keine hinreichenden Unterschiede zwischen roher und dauererhitzter Milch sich ergeben.

Bengen und Bohm (2) stellten ein sogenanntes Grenzserum her, und zwar mit Hilfe einer Ammoniumsulfatlösung. 100 ccm Milch + 20 Gramm Ammoniumsulfat. Dadurch werden alle leicht gerinnbaren Eiweißstoffe ausgeschieden. Dieses sogenannte Grenzserum enthält noch gerinnbare Eiweißstoffe, wenn es von einer rohen Milch stammte, nicht mehr dagegen, wenn die Milch bereits auf 63 bis 65 Grad erhitzt war. Das Serum der rohen Milch zeigte durch Nacherhitzen bereits bei 64 Grad eine Trübung, das Serum der dauerpasteurisierten Milch aber erst bei 71 Grad. Das am leichtesten gerinnbare Eiweiß war also in diesem Serum schon nicht mehr vorhanden, war schon geronnen. Bei Erhitzen auf 60 Grad gerinnen die Albumine noch nicht, infolgedessen verhält sich diese Milch wie Rohmilch.

Mit demselben Serum arbeiteten Umbrecht und Vogt (21) eine neue Methode aus. Auch diese Methode gründet sich nicht allein auf den quantitativen Unterschied im Lactalbumingehalt roher und pasteurisierter Milch, sondern mehr oder weniger auf die qualitative Verschiedenheit in der Zusammensetzung des fraglichen Eiweißstoffes der rohen und pasteurisierten Milch. Das Milchserum wird mit Wasser im Verhältnis 1 : 5 verdünnt, mit 0,1 ccm verdünntem Esbach-Reagenz versetzt und 5 Minuten in kochendes Wasserbad gestellt. Im Serum roher Milch tritt das Eiweiß grobflockig aus, im Serum dauererhitzter Milch nur als Trübung. Zur quantitativen Feststellung wird das Serum noch zentrifugiert.

Klostermann und Schneck (7) prüften diese Methode. Sie stellten ebenfalls das koagulierte Eiweiß voluminös fest, sie kamen jedoch zu dem Urteil, daß die Methode nach Umbrecht und Vogt für die Unterscheidung von roher und pasteurisierter Milch nicht einwandfrei ist.

Nach dem Urteil Zellers läßt sich bei Prüfung der vielen schon angewandten Methoden keine herausfinden, mit der man einwandfrei und sicher Milch, die auf 63 bis 65 Grad eine halbe Stunde erhitzt ist, nachweisen kann. Der Grund dafür liegt wohl in der verschiedenartigen Zusammensetzung der Milch selbst. Jede Milch ist ein „Individuum“ für sich.

III. Eigene Untersuchungen.

1. Methode der Serumnacherhitzung.

Unter vorgeschilderten Umständen ist es verständlich, daß immer wieder Versuche gemacht werden, das Problem einer Klärung zuzuführen, selbst wenn man nach Gefüge und Zusammensetzung der Milch von vorneherein mit Mißerfolgen rechnen muß.

Meine Untersuchungen sollten die Frage weiterer Klärung zuführen, ob und wie weit man durch Nacherhitzung von Milchserum eintretende Ausfällungen von Eiweiß als Nachweis für den Erhitzungsgrad der Milch verwenden kann.

Da erfahrungsgemäß mit steigernder Erhitzung auch eine sich steigernde Zerstörung der Eiweißarten und Verschiebungen im Salzgehalt der Milch stattfinden, so müssen nach Gewinnung bestimmter Sera aus solcher Milch auch dementsprechend verschiedene Mengen noch nicht zerstörter Eiweißarten vorhanden sein. Dabei geht man allerdings von der Voraussetzung aus, daß das Denaturierungsphänomen bei verschiedenen Hitzegraden stets in jeder Milch in gleicher Weise und in gleichem Umfange je nach dem Erhitzungsgrade verlaufen wird. Die nach der Vorerhitzung übrig gebliebenen hitzekoagulablen Eiweißarten sollten durch systematische Nacherhitzung auf verschiedene Temperaturen und ganz bestimmte Zeitdauer ausgefällt werden. Der Mengennachweis der Ausfällungen (gleich, ob Eiweiß oder auch anderes) sollte mit der Trommsdorffmethode versucht werden.

Zu den Untersuchungen wurde stets nur rohe Mischmilch verschiedener Herkunft verwendet, die erst im Laboratorium dann auf die verschiedenen Erhitzungsgrade von 60, 65, 70 und 75 Grad jeweils eine halbe Stunde gebracht wurde. Bereits erhitzte Handelsmilch wurde nicht geprüft.

Für die Nacherhitzung wurden die Sera auf zwei Arbeitsarten gewonnen, entweder als Bleiserum nach Rothenfusser oder als Tetraserum I nach Pfyl und Turnau (12).

a) Bleiserum.

100 ccm Milch werden in einen Kolben gebracht und dann mittels Meßpipette 10 ccm Liquor Plumbi subacetici zugemessen. Die Mischung wird im Kolben durch Schütteln zusammengemengt, bis sich an der Wand des Kolbens feinkörniges Kaseingerinnsel niederschlägt. Darauf wird das Gemenge nach kurzem Stehen in einen zweiten Kolben filtriert. Ist am Anfang doch noch Opales-

zenz vorhanden, so verschwindet diese allmählich durch längeres Stehen bei Tageslicht. Bei längerem Stehenlassen tritt im Serum allmählich wieder eine starke Trübung auf.

Ich konnte feststellen, daß solch trübes Serum einer vorher erhitzten Milch durch wiederholtes Filtrieren wieder klar wurde, das trübe Serum einer rohen Milch aber nicht mehr.

b) Tetraserum.

Das Tetraserum I ist ein Serum, das ohne weitere Vorbereitung aus der Milch gewonnen wird, im Gegensatz zum Tetraserum II, das aus der gleichen Milch nach deren vorherigem Kochen gewonnen wird. Das Tetraserum II ist daher für unsere Untersuchungen entbehrlich.

Zur Herstellung werden verwendet 50 ccm Milch + 5 ccm Tetrachlorkohlenstoff. Diese beiden Stoffe werden in einem Kolben gemischt und 5 bis 10 Minuten lang kräftig geschüttelt. Darauf wird diese Mischung mit 1 ccm 20%iger Essigsäure versetzt, nochmals ca. 3 Minuten kräftig geschüttelt, und die ganze Mischung langsam in einem zweiten Kolben filtriert.

Vorteile und Nachteile der beiden Serumarten.

Das Bleiserum hat den Vorteil, daß es leichter und müheloser hergestellt werden kann als das Tetraserum, es hat aber gegenüber dem Tetraserum den Nachteil, daß es beim Stehen sich rasch trübt, obwohl es am Anfang klarer ist, als das Tetraserum. Ferner tritt beim Bleiserum eine Ausfällung bedeutend rascher ein als beim letzteren.

Zunächst versuchte ich, die Sera der zuerst auf verschieden hohe Erhitzungsgrade gebrachten Milch mit der Temperatur der Vorerhitzung einer weiteren Ausfällung zuzuführen. Später wurde jeweils eine um 5 Grad höhere Temperatur immer in einer Zeitdauer von einer halben Stunde bei der Nacherhitzung angewandt. Da die dabei verwendeten Nacherhitzungstemperaturen aber so schon ziemlich hoch wurden, waren Differenzierungen der ausgefällten Eiweißmengen schwer.

Tetraserum

Tabelle 1 Trommsdorffpr. 2 ccm Serum, 1/2 St. Zentr.-Zeit

Milch	Serum 1/2 St. nacherhitzt	Trübung	Gr. d. Trüb.	Tro. ccm
roh	60 Gr.	fast klar	+	0,2
roh	65 Gr.	dtl. Trüb.	++	3,0
roh	70 Gr.	„	++	4,0
vorerh. 1/2 St.				
60 Gr.	60 Gr.	fast klar	+	0,1
60 Gr.	65 Gr.	dtl. Trüb.	++	2,7
60 Gr.	70 Gr.	„	++	3,2
65 Gr.	65 Gr.	„	++	1,3
65 Gr.	70 Gr.	„	++	1,9
70 Gr.	70 Gr.	„	++	1,2

Es wurden drei Proben roher Milch, drei von auf 60 Grad eine halbe Stunde erhitzter Milch, zwei Proben auf 65 Grad, und eine Probe auf 70 Grad erhitzter Milch genommen. Als Serum wurde Tetraserum verwendet. Die Nacherhitzung erfolgte zunächst mit der gleichen Erhitzungstemperatur, dann immer mit einer um 5 Grad höheren Erhitzungstemperatur. Bei 60 Grad Nacherhitzung mit einer halbstündigen Dauer war die Ausfällungswirkung gering, daher Serum fast klar. Die Nacherhitzungstemperaturen von 65 und 70 Grad waren bereits zu stark, so daß schon keine Differenzierung in der Ausfällungsstärke mehr festgestellt werden konnte. Jedoch weisen die Trommsdorff-Proben schon eine gewisse Regelmäßigkeit auf, die vielleicht für die quantitative Ausfällung einen gewissen Anhaltspunkt geben könnten, jedoch wegen verschiedener Fehler, die in der Natur dieser Sedimentierung liegen, für unsere Bestimmungen kein sicheres Maß abgeben können.

In den nächsten Versuchen ging ich dazu über, nicht wie im ersten Versuch mit der gleichen oder um 5 Grad höheren Erhitzungstemperatur nachzuerhitzen, sondern für alle Proben, d. h. für die Sera der rohen sowie der auf verschieden hohe Grade gebrachten Milch systematisch eine bestimmte konstante, für alle gleiche Erhitzungstemperatur und Erhitzungsdauer zu verwenden.

Diese experimentell erprobten Erhitzungsgrade und die Erhitzungsdauer schwanken in den einzelnen Versuchen zwischen 60

Grad eine halbe Stunde, 60 Grad eine Stunde, 65 Grad eine Viertelstunde, 65 Grad eine halbe Stunde. 65 Grad eine Stunde oder z. B. 70 Grad eine Viertelstunde, 70 Grad eine halbe Stunde sind bereits zu grobe Einwirkungen, die eine Differenzierung wegen der allzu schroff eintretenden Ausflockung nicht mehr zulassen. Zu diesen weiteren Versuchen wurden wiederum abwechslungsweise beide Serumarten, sowohl das Blei- als auch das Tetraserum verwendet, und der Trübungsgrad festgestellt. Als Nebenkontrolle wurden außerdem noch die Trommsdorffprobe verwendet, die, wie ja schon erwähnt, für sich keinen entscheidenden Ausschlag geben kann, wohl aber als Zusatz immerhin in Uebereinstimmung und mit der deutlich unterscheidbaren Ausfällungsstärke das Ergebnis der Differenzierung bestätigen kann.

Methode der Nacherhitzung der Sera.

Nach der Filtration wird zunächst genau die Klarheit des Serums geprüft. Ist das Serum nicht klar, so wird solange die Filtration wiederholt, bis die gewünschte Klärung des Serums eingetreten ist. Sodann werden die Sera der verschieden hoch erhitzten Milch in Reagenzgläser gegossen, so daß diese ungefähr ¼ bis ⅓ gefüllt sind. Die Reagenzgläser müssen genau gekennzeichnet sein. Es mußten sowohl die Erhitzungstemperatur und Erhitzungsdauer der Milch, von der dieses Serum stammt, überprüfbar sein, als auch die Temperatur und Dauer der Nacherhitzung. In die Reagenzgläser werden je ein Thermometer eingelegt, und die Gläser sodann ins Wasserbad gebracht. Durch vorsichtiges Erwärmen wird das Serum auf die beabsichtigte Temperatur gebracht. Wegen der genauen Kontrolle ist es zweckmäßig, nicht mehr als zwei Sera in einem Wasserbad zu erwärmen. Jedoch ist es günstig, die beiden Sera zu gleicher Zeit in ein Wasserbad zu bringen, auf deren Differenzierung es vor allem ankommt, z. B. das Serum einer Milch, die auf 60 Grad, und einer anderen, die auf 65 Grad erhitzt war, da ja gerade diese beiden Temperaturen die Grenzen für die Hitzegrade bei der Niederpasteurisierung darstellen.

Folgende Versuche zeigen die Ergebnisse der systematischen Nacherhitzung auf 60 Grad eine halbe Stunde, 60 Grad eine Stunde, 65 Grad eine halbe Stunde:

Nacherhitzung des Tetraserums

Tabelle 2. Trommsdorffpr. 2 ccm Serum, $^1/_2$ St. Zentrif.-Zeit

Milch	Serum nacherh. 60Gr $^1/_2$St.	Serum nacherh. 60Gr. 1 St.	Serum nacherh. 60Gr $1^1/_2$St.	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm	Serum nacherh. 65Gr $^1/_2$St	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm
roh	dtl. Trüb.	dtl. Trüb. ger. Ausfl.	st. Trüb. Ausfl.	+++	2,3	dtl. Trüb. Ausfl.	+++	3,0
vorerh. $^1/_2$St. 60Gr	ger. Trüb.	„	„	+++	3,0	dtl. Trüb. ger. Ausfl.	+++	1,6
65 Gr.	„	ger. Trüb. k. Ausfl.	dtl. Trüb. ger. Ausfl.	++	0,4	Trüb. ger. Ausfl.	++	0,1
70 Gr.	„	„	„	+	0,2	„	+	0,1

Nacherhitzung des Tetraserums

Tabelle 3. Trommsdorffpr. 2 ccm Serum $^1/_2$ St. Zentrif.-Zeit.

Milch	Serum nacherh. 63 Gr 1 St.	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm	Serum nacherh. 65Gr $^1/_4$St.	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm	Serum nacherh. 65Gr $^1/_2$St.	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm
roh	—	—	—	—	—	—	st. Trüb. Ausfl.	+++	2,0
vorerh. $^1/_2$ St. 60 Gr.	dtl. Trüb. st. Ausfl.	++	0,4	dtl. Trüb. Ausfl.	++	0,5	„	+++	1,5
63 Gr.	—	—	—	—	—		„	++	1,5
65 Gr.	dtl. Trüb. st. Ausfl.	++	0,2	dtl. Trüb. Ausfl.	++	0,2	„	+++	1,4
70 Gr.	—	—	—	—	—	—	ger. Trüb. k. Ausfl.	+	0,1

Bei diesen Versuchen ergab sich ein deutlicher Unterschied in der Ausfällungsstärke bei Nacherhitzung des Serums. Geringer Unterschied zeigte sich in der Ausfällung der Sera von Rohmilch, und solcher, die vorher auf 60 Grad erhitzt war. Ebenso war der Unterschied in der Ausfällung gering bei den Sera von Milch, die auf 65 und 70 Grad vorher erhitzt war. Ganz deutlich war

jedoch der Unterschied bei den Sera von Milch mit einer Vorerhitzung von 60 und 65 Grad. Auch die Trommsdorff-Probe zeigte diesen deutlichen Unterschied. Als günstigste Nacherhitzungstemperatur ergab sich 65 Grad mit einer halbstündigen Erhitzungsdauer.

In folgenden Versuchen wurden die Sera der verschieden vorerhitzten Milchen folgenden Nacherhitzungstemperaturen ausgesetzt: 60 Grad eine Stunde, 63 Grad eine Viertelstunde, 63 Grad eine halbe Stunde, 65 Grad eine Viertelstunde, 65 Grad eine halbe Stunde und 70 Grad eine Viertelstunde.

Nacherhitzung des Tetraserums.

Tabelle 5. Trommsdorffpr. 2 ccm Serum, 1/2 Zentr.-Zeit

Milch	Serum nacherh. 60 Gr. 1 St.	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm	Serum nacherh. 63 Gr 1/4 St.	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm	Serum nacherh. 63 Gr 1/2 St.	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm
roh	dtl. Trüb. Ausfl.	++	0,7	dtl. Trüb. beg. Ausfl.	++	0,9	dtl. Trüb. Ausfl.	++	0,9
vorerh. 1/2 St. 60 Gr.	ger. Trüb. k. Ausfl.	+	—	dtl Trüb. k. Ausfl.	++	0,2	dtl. Trüb. ger. Ausfl.	++	0,5
65 Gr.	„	+	—	ger. Trüb. k. Ausfl.	+	—	ger. Trüb. k. Ausfl.	+	0,1
70 Gr.	klar	—	—	klar	—	—	klar	—	—
	1.			2.			3.		

Tabelle 6. Trommsdorffpr. 2 ccm Serum, 1/2 St. Zentr.-Zeit.

Milch	Serum nacherh. 65 Gr 1/4 St.	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm	Serum nacherh. 65 Gr 1/2 St.	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm	Serum nacherh. 70 Gr 1/4 St.	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm
roh	dtl. Trüb. Ausfl.	++	1,5	st. Trüb. st. Ausfl.	++	/	st. Trüb. st. Ausfl.	+++	
vorerh. 1/2 St. 60 Gr.	„	++	0,5	„	++	/	„	+++	
65 Gr.	ger. Trüb. k. Ausfl.	+	—	„	++	/	„	+++	
70 Gr.	klar	—	—	klar	—	/	dtl. Trüb. beg. Ausfl.	+	
	4.			5.			6.		

Zu Tabelle 5 und 7: Bei Erhitzung der Sera bis zum Kochen ergab sich in allen vier Fällen eine gleich starke weiße Aus-

flockung. Eine Unterscheidung in den Seren der vorher und verschieden hoch vorerhitzten Proben war nicht mehr möglich.

1. Serum nacherhitzt auf 60 Grad eine Stunde lang.

Deutlicher Unterschied zwischen Rohmilch und auf 60 Grad vorerhitzter Milch. Kein Unterschied zwischen Milch mit 60 und 65 Grad Vorerhitzung. In sämtlichen Proben trat bei der Nacherhitzung mit dieser Temperatur noch keine Ausflockung ein.

2. Serum nacherhitzt auf 63 Grad eine Viertelstunde lang. Bei Rohmilch und auf 60 Grad vorerhitzter Milch ist die Trübung des nacherhitzten Serums gleich, kein Unterschied. Serum der auf 60 und 65 Grad vorerhitzten Proben zeigt einen deutlichen Unterschied. Geringgradig ist er wieder bei den Seren der Milchen mit einer Vorerhitzung auf 65 und 70 Grad. Bei dem Serum der auf 75 Grad vorerhitzten Milch ist eine Trübung überhaupt nicht mehr vorhanden, klares Serum.

3. Serum nacherhitzt auf 63 Grad eine halbe Stunde lang Bei Rohmilch und auf 60 Grad vorerhitzter Milch im nacherhitzten Serum deutliche Trübung und Ausflockung, aber kein Unterschied zwischen beiden. Deutlichen Unterschied zeigte die Nacherhitzung des Serums bei Milch mit einer Vorerhitzung auf 60 und 65 Grad, dagegen geringen bei den Proben mit einer Vorerhitzung auf 65 und 70 Grad.

4. Serum nacherhitzt auf 65 Grad eine Viertelstunde lang. Wiederum geringer Unterschied bei Rohmilch und auf 60 Grad vorerhitzter Milch. Deutlicher Unterschied zwischen den Milchen mit einer Vorerhitzung auf 60 und 65 Grad. Geringgradiger Unterschied zwischen den Proben der auf 65 und 70 Grad vorerhitzten Milch.

5. Serum nacherhitzt auf 65 Grad eine halbe Stunde lang. Im Serum der Rohmilch starke Trübung und Ausflockung, ebenso bei auf 60 Grad vorerhitzter Milch. Kein Unterschied zwischen beiden. Geringer Unterschied zwischen Milch von 60 und 65 Grad Vorerhitzung, deutlicher Unterschied zwischen der auf 65 und 70 Grad vorerhitzten Milch. Das nacherhitzte Serum der auf 70 Grad vorerhitzten Milch ist klar geblieben.

6. Serum nacherhitzt auf 70 Grad eine Viertelstunde lang. Trübung und Ausflockung ist im Serum sowohl der Rohmilch, als auch der auf 60 und 65 Grad vorerhitzten Milch sehr stark. Zwischen den drei Proben ist kein Unterschied mehr feststellbar, lediglich zwischen den Milchen mit einer Vorerhitzung von 65 und 70 Grad.

Zusammenfassung dieses Versuches: In den Fällen 2, 3 und 4, also bei den Nacherhitzungstemperaturen 63 Grad eine Viertel-

stunde, 63 Grad eine halbe Stunde, und 65 Grad eine Viertelstunde, ergaben sich deutliche Unterschiede in der Stärke der Ausfällung bei den Seren der auf 60 und 65 Grad vorerhitzten Milch. Geringgradig war der Unterschied bei der Nacherhitzungstemperatur 65 Grad eine halbe Stunde. Kein Unterschied mehr bei der Nacherhitzungstemperatur von 60 Grad eine Stunde und 70 Grad eine Viertelstunde. Es bildet also die Nacherhitzungstemperatur von 60 Grad eine untere Grenze. Selbst wenn die Nacherhitzungstemperatur verlängert wird, reicht diese Temperatur zu einer deutlichen Ausfällung nicht hin. Die obere Grenze bildet die Temperatur von 70 Grad. Diese Temperatur zeitigt selbst bei einer kürzeren Erhitzungsdauer bereits eine sehr schroffe Wirkung, so daß auch sie zur Differenzierung nicht mehr verwendet werden kann. Das Optimum liegt bei den Temperaturen 63 Grad eine halbe Stunde, 65 Grad eine Viertelstunde, wobei erstere das deutlichste und schönste Resultat geliefert hat.

Folgender Versuch wurde mit den zwei Seraarten ein und derselben Milch vorgenommen. Es zeigte sich dabei, daß beim Bleiserum eine Ausflockung viel rascher eintrat, als beim Tetraserum. Wegen der stärkeren Ausflockung bei diesem Serum ist auch eine Unterscheidung in der Stärke der Ausflockung viel schwieriger. Bei Tetraserum ist die Ausflockung viel geringgradiger und tritt auch langsamer ein.

Nacherhitzung der Sera.

A. Tetraserum.

Tabelle 7. Trommsdorffpr. 2 ccm Serum, 1/2 St. Zentrif.-Zeit.

Milch	Serum nacherh. 63Gr 1/2St.	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm	Serum nacherh. 65Gr 1/4St.	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm	Serum nacherh. 65Gr 1/2St.	Gr. d. Trüb.	Tre. cmm
roh	st. Trüb. st. Ausfl.	+++	1,8	dtl. Trüb. beg. Ausfl.	++	1,1	st. Trüb. st. Ausfl.	+++	2,0
vorerh. 1/2 St. 60 Gr.	ger. Trüb. k. Ausfl.	+	0,1	ger. Trüb. k. Ausfl.	+	0,2	dtl. Trüb. ger. Ausfl.	++	0,8
65 Gr.	klar	—	—	„	+	0,2	„	++	0,7
70 Gr.	klar	—	—	klar	—	—	klar	—	—
	1.			2.			3.		

B. Bleiserum.

Tabelle 8. Trommsdorffpr. 2 ccm Serum, 1/2 St. Zentr.-Zeit.

Milch	Serum nacherh. 63Gr 1/2St.	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm	Serum nacherh. 65Gr 1/4St.	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm	Serum nacherh. 65Gr 1/2St.	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm
roh	st. Trüb. st. Ausf.	+++	0,8	st. Trüb. st. Ausfl.	+++	0,5	st. Trüb. st. Ausfl.	+++	0,5
vorerh. 1/2 St. 60 Gr.	dtl. Trüb. ger. Ausf.	++	0,3	„	+++	0,3	„	+++	0,3
65 Gr.	„	++	0,2	ger. Trüb. beg. Ausfl.	+	0,1	dtl. Trüb. Ausfl.	++	0,1
70 Gr.	ger. Trüb. ger. Ausfl.	+	0,1	„	+	0,1	ger. Trüb. beg. Ausfl.	+	0,1
	1.			2.			3.		

Zu Tabelle 7 und 8:

Nacherhitzung des Tetraserums.

1. Serum nacherhitzt auf 63 Grad eine halbe Stunde lang. Zwischen Rohmilch und der auf 60 Grad vorerhitzten Milch, sowie zwischen der auf 60 und 65 Grad vorerhitzten Milch ist in der Trübung des nacherhitzten Serums ein ganz deutlicher Unterschied. Dagegen ist kein Unterschied mehr vorhanden im Serum der Milch mit einer Vorerhitzung auf 65 Grad und einer solchen auf 70 Grad. In beiden Fällen blieb das Serum auch während der Nacherhitzung klar.

2. Serum nacherhitzt auf 65 Grad eine Viertelstunde lang. Unterschied in den Seren der Rohmilch und der auf 60 Grad vorerhitzten Milch. Ebenso zwischen den Seren der auf 65 und 70 Grad vorerhitzten Milch. Kein Unterschied dagegen mehr bei den Proben der Milchen mit einer Vorerhitzung auf 60 und 65 Grad.

3. Serum nacherhitzt auf 65 Grad eine halbe Stunde lang. Bei Nacherhitzung des Serums der Rohmilch starke Trübung und Ausfällung. Auch hier wieder deutlicher Unterschied zwischen Rohmilch und der auf 60 Grad erhitzten Milch. Bei den Sera der auf 60 und 65 Grad erhitzten Milch kein Unterschied. Als Optimum der Nacherhitzungstemperatur hat sich auch in diesem Versuch 63 Grad eine halbe Stunde bewährt.

Nacherhitzung des Bleiserums.

1. Serum nacherhitzt auf 63 Grad eine halbe Stunde lang. Bei Serum der Rohmilch starke Trübung, geringere Trübung bei den Seren der auf 60 und 65 Grad vorerhitzten Milch. Unterschied besteht nur zwischen Rohmilch und auf 60 Grad erhitzten Milch.

2. Serum nacherhitzt auf 65 Grad eine Viertelstunde lang. Zwischen dem nacherhitzten Serum der Rohmilch und der auf 60 Grad erhitzten Milch geringer Unterschied, deutlicher Unterschied zwischen der Milch mit 60 und 65 Grad Vorerhitzung.

3. Serum nacherhitzt auf 65 Grad eine halbe Stunde lang. Unterschied deutlich zwischen der auf 60 und 65 Grad erhitzten Milch, kein Unterschied dagegen zwischen Rohmilch und der auf 60 Grad erhitzten Milch. Das Nacherhitzungsoptimum liegt hier bei 65 Grad eine Viertelstunde lang, also ebenfalls im Bereiche der oben angegebenen günstigen Nacherhitzungstemperaturen.

Nacherhitzung der Sera.

A. Tetraserum.

Tabelle 9. Trommsdorffpr. 2 ccm Serum, 1/2 St. Zentr.-Zeit.

Milch	Serum nacherh. 63Gr 1/4St	Gr. d. Srüb.	Serum nacherh. 63Gr 1/2St	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm	Serum nacherh. 65Gr 1/2St	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm	Serum nacherh. 65Gr 1/2St	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm
roh	dtl. Trüb ger. Ausfl	++	dtl. Trüb. Ausfl.	++	0,9	st. Trüb. st. Ausfl.	++	1,7	dtl. Trüb. Ausfl.	++	0,6
vorerh. 1/2 St. 60 Gr.	ger. Trüb. k. Ausfl.	+	„	++	0,5	dtl. Trüb. ger. Ausfl	++	0,6	„	++	1,5
65 Gr.	fast k. Trüb.	—	ger. Trüb.	+	0,2	„	++	0,2	dtl. Trüb. ger. Ausfl.	+	0,6
70 Gr.	klar	—	klar	—	—	klar	—	—	klar	—	—

B. Bleiserum.

Tabell 10. Trommsdorffpr. 2 ccm Serum, 1/2 St. Zentr.-Zeit.

Milch	Serum nacherh. 63Gr 1/2St.	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm	Serum nacherh. 65Gr 1/4St.	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm	Serum nacherh. 65Gr 1/2St.	Gr. d. Trüb.	Tro. cmm
roh	dtl. Trüb. Ausfl.	++	0,4	Trüb. ger. Ausfl.	+	0,3	dtl. Trüb. Ausfl.	+	0,4
vorerh. 1/2 St. 60 Gr.	„	++	0,7	„	++	0,5	„	++	0,7
65 Gr.	„	++	0,7	„	++	0,6	„	++	1,1
70 Gr.	ger. Trüb.	+	0.3	ger. Trüb.	+	0,5	ger. Trüb.	+	0,4
	1.			2.			3.		

Nacherhitzung des Tetraserums.

1. Serum nacherhitzt auf 63 Grad eine Viertelstunde. Bei Rohmilch im nacherhitzten Serum deutliche Trübung, geringe Ausfällung. Bei auf 60 und 65 Grad erhitzter Milch im Serum nur noch geringe Trübung, keine Ausflockung mehr. Deutlicher Unterschied zwischen dem Serum der Rohmilch und der auf 60 Grad erhitzten Milch, ebenso zwischen den Seren der auf 60 und 65 Grad erhitzten Milch.

2. Serum nacherhitzt auf 63 Grad eine halbe Stunde lang. Hier kein Unterschied zwischen dem nacherhitzten Serum der Rohmilch und der auf 60 Grad erhitzten Milch. Deutlicher Unterschied zwischen den auf 60 und 65 Grad vorerhitzten Milchen.

3. Serum nacherhitzt auf 65 Grad eine Viertelstunde lang. In diesem Falle ist kein Unterschied festzustellen, zwischen den Seren der Rohmilch und der auf 60 Grad vorerhitzten Milch. Nur geringer Unterschied zwischen den auf 60 und 65 Grad erhitzten Milchen.

4. Serum auf 65 Grad nacherhitzt eine halbe Stunde lang. Fast kein Unterschied zwischen Rohmilch und auf 60 Grad vorerhitzter Milch. Deutlicher Unterschied dagegen zwischen Milch mit einer Vorerhitzung auf 60 und 65 Grad.

Alle Nacherhitzungsgrade ergeben hier eine auffallend verschiedene Ausfällungsstärke im nacherhitzten Serum. Sowohl zwischen Rohmilch und auf 60 Grad erhitzter Milch als auch zwischen Milch mit 60 und 65 Grad Vorerhitzung ergeben sich deutliche Unterschiede. Also auch hier deutliche Anhaltspunkte zur Differenzierung der nacherhitzten Seren von Milchen, die auf verschieden hohe Temperaturen vorerhitzt waren.

Nacherhitzung des Bleiserums.

Ganz anders gestaltet sich das Resultat der Nacherhitzung des Bleiserums. Da es in der Natur des Bleiserums liegt, eine schnelle und starke Ausfällung zu zeigen, ist es hier viel schwerer, die einzelnen Ausfällungsstärken festzustellen. Im vorliegenden Versuche konnten wohl Unterschiede zwischen den Seren der auf 60 und 65 Grad vorerhitzten Milch festgestellt werden, und zwar bei allen 3 angewandten Erhitzungsgraden. Aber es sind hier in allen 3 Proben immer gewisse Uebergänge vorhanden, so daß wegen der mangelnden deutlichen Abgrenzung nicht das sichere Urteil gefällt werden kann, wie es bei den Proben des Tetraserums der Fall ist.

2. Prüfung der Oxydierbarkeit der organischen Substanzen.

Verlockend war es, nach all den Vorversuchen doch noch zu versuchen, ob nicht durch genauere Nachweise quantitativer Art die Minderung der ausfällbaren organischen Substanzen bei Milcherhitzung exakteren Nachweis zugeführt werden könnte.

Es wurde dazu die „Oxydierbarkeit" der Milch in Aussicht genommen.

Diese Methode beruht darauf, daß mit Hilfe von bestimmten Oxydationsmitteln die im Serum vorhandenen oxydierbaren Stoffe quantitativ festgestellt werden. In Frage kommen hier für die Oxydation vor allem die Eiweißarten Albumine, Globuline, ferner noch Milchzucker und sonstige oxydierbare Stoffe. Da diese aber durch die vorhergehende Erhitzung mit Ausnahme der hitzekoagulablen Eiweißstoffe eine wesentliche Veränderung nicht erleiden, so ist das Hauptaugenmerk besonders auf die Veränderung bei den Albuminen und Globulinen zu richten. Im Notfall konnten im eiweißfreien Serum die übrigen Stoffe bestimmt werden.

Mit Hilfe der Oxydationsmittel soll geprüft werden, ob sich Unterschiede zeigen im Gehalt an oxydierbaren Eiweißstoffen und zwar im Serum der auf verschieden hohe Temperaturen erhitzten Milch.

Zu diesem Zwecke wird das Verfahren nach Kubel-Tiemann (Gotschlich Band I, Seite 927 (4)) angewandt, das auch Verwendung findet für die Bestimmung von oxydierbaren Substanzen im Wasser. Als Oxydationsmittel dient eine n/100-Kaliumpermanganatlösung und zur Titration eine n/100-Oxalsäurelösung, deren Herstellung C. Arnold (1) angegeben hat.

Versuche

Vorversuch:

Während der gesamten Versuchsreihe wurden zwei Titrationen vorgenommen, und zwar mit n/100-Lösungen. Sie ergaben beide Male den Wert 10,6. Also 10,0 ccm n/100tel Kaliumpermanganatlösung sind zur Oxydation von 10,0 ccm n/100-Oxalsäurelösung notwendig.

Hauptversuche:

Verwendet wurde jeweils Mischmilch und zwar rohe, auf 60 Grad, 65 Grad und 70 Grad erhitzt, sowie gekocht. Als Serum wurde Bleiserum verwendet. Zur 100 ccm Milch 12 ccm Liquor plumbi subacetici. In einigen Probeversuchen versuchte ich bei einem Verhältnis von Serum zu Wasser = 1 : 90 n/10tel Lösungen

anzuwenden, da bei 1 ccm Serum bereits sehr große Mengen oxydierbarer organischer Stoffe vorhanden sind. Da n 100tel-Lösungen dabei nur in ganz großen Mengen zugegeben werden konnten, verwendete ich eben diese n 10tel-Lösungen. Dabei kam es aber zu so starken Braunsteinausfällungen, daß eine klare Austitration nach Zugabe von Oxalsäure nicht mehr möglich war. Aus diesem Grunde verminderte ich die Menge des Serums auf einhalb bzw. ein Viertel, so daß also ein Mengenverhältnis von ½ bis ¼ ccm Serum und 99,5 bzw. 99,75 Wasser zustandekam.

Versuchsreihe.

Versuche	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Verhältnis von Serum : Milch	½ : 99½ ccm	¼ : 99¾ ccm	¼ : 99¾ ccm	½ : 99½ ccm	½ : 99½ ccm	½ : 99½ ccm	¼ : 99¾ ccm
Art der verwendeten Milch	Menge der dem Serum zugegebenen n 100 Kal. permangan. Lösung in ccm:						
Milch: roh	66,4	—	39,4	108,4	89,1	98,8	36,4
Milch vorerh. auf 60 Gr. ½ St.	59,9	36,4	39,4	108,4	87,6	96,8	35,9
Milch vorerh. auf 65 Gr. ½ St.	—	38,4	39,4	99,3	79,4	96,8	35,8
Milch vorerh. auf 70 Gr. ½ St.	50,9	34,4	38,9	91,9	79,4	86,2	35,1
Milch: gekocht	—		38,4	88,4	78,4	86,3	—

In der angeführten Versuchsreihe wurde festgestellt, wieviele Mengen einer n 100 Kaliumpermanganatlösung zur Oxydation von Sera der auf verschieden hohe Grade erhitzten Milchen notwendig sind. Die Sera waren bei allen sieben Versuchen vollständig klar. Mit Ausnahme von Versuch 2 ergeben sich bei allen Versuchen

fallende Mengen der verwendeten Kaliumpermanganatlösung von Milch: roh bis Milch: gekocht.

Besonders deutlich sind die Unterschiede der Ergebnisse in Versuch 1, 4 und 5.

IV. Zusammenfassung.

1. Auf Grund dieser Untersuchungen und deren Ergebnisse läßt sich die Frage, ob die durch Nacherhitzung des Milchserums bewirkte Eiweißausfällung für den Nachweis der Niederpasteurisierung herangezogen werden kann, nur allgemein und unter Vorbehalt bejahen. Zunächst konnte versuchsweise festgelegt werden, daß zum Nachweis von stattgefundener Niedererhitzung der Milch die Nacherhitzung der Tetrasera auf 63 bis 65 Grad für die Dauer von einer viertel bis einer halben Stunde die besten Ergebnisse zeitigt. Die Unter- bzw. Ueberschreitung dieser Grenzen führte stets zu einem negativen Ergebnis. Ist die Temperatur zu niedrig, so ist sie nicht fähig, eine Ausfällung hervorzurufen, es sei denn bei sehr langer und zeitraubender Nacherhitzungsdauer. Zu hohe Temperaturen dagegen rufen eine zu rasche und zu starke Ausfällung hervor, selbst bei starker Beschränkung der Erhitzungsdauer. Durch diese allzustarke Ausfällung ist aber eine Unterscheidung der Ausfällungsstärken zwischen den einzelnen in Frage kommenden Seren nicht mehr möglich.

Die Optima liegen bei verschiedenen Graden zu verschiedenen Zeiten. Es empfehlen sich Erhitzungsgrade von 63 bis 65 Grad für die Dauer von einer halben bis einer viertel Stunde. Bei 65 Grad eine halbe Stunde lang wird das Maximum schon überschritten und es zeigt sich mehrmals bereits zu intensive Ausfällung. Bei der Frage, welchen von den beiden angewandten Serumarten wohl der Vorzug zu geben sei, kann man dem Tetraserum eher das Wort sprechen. Das Bleiserum ist ja einfacher und bequemer herzustellen, hat aber eine Anzahl schwerwiegender Nachteile. Gerade wegen seiner Eigenschaft, rasche und stärkere Ausfällung zu zeigen, haben sich bei diesem Serum öfter zweifelhafte Resultate ergeben, während bei Proben derselben Milch das Tetraserum ein eindeutiges Ergebnis zeitigte. Daß sich nun in den verschiedenen Resultaten nicht ein Versuch wie der andere zeigt, und sich ziemliche Schwankungen zwischen den einzelnen Resultaten ergaben, liegt in der Natur der Materie. Für die Milch und damit auch für das in Frage kommende Serum lassen sich niemals konstante Maße aufstellen. Und diese Tatsache ist ja

letzten Endes auch der Grund, warum trotz der vielen unternommenen Versuche noch keine sichere Methode zum Nachweis der Niedererhitzung gefunden werden konnte.

Dazu kommt noch, daß die Methode der Nacherhitzung im Gegensatz zu einem Verfahren mit chemischen Mitteln immerhin eine etwas grobe Art der Differenzierung darstellt. Es ist daher mit diesem Verfahren nicht möglich, geringe Differenzen in der Vorerhitzung etwa zwischen 61 und 62 Grad deutlich kenntlich zu machen. Trotzdem ist es möglich, wie ich auf Grund meiner Versuche feststellen konnte, mit Hilfe einer sogenannten Testmilch (rohe Milch) durch die Nacherhitzungsmethode nachzuweisen, ob die zu untersuchende Milch über 65 Grad oder unter 60 Grad erhitzt ist. Grade zwischen diesen beiden Grenzen können jedoch nicht festgestellt werden, was ja auch nicht absolut notwendig ist, da ja die Erhitzungsgrade bei der Niederpasteurisierung vorschriftsgemäß zwischen 60 und 65 Grad liegen. Es trifft also die Behauptung Meyers (10) nicht zu, daß zwischen Seren roher und dauerpasteurisierter Milch ein quantitativer und qualitativer Unterschied bezüglich der koagulierbaren Eiweißstoffe nicht festzustellen sei, den man als Diagnostikum verwenden könnte.

Somit bildet auch dieses Verfahren des Nachweises der Niedererhitzung ein Glied in der Kette der vielen Nachweismethoden, die bisher schon versucht wurden. Schon Zeller (25) stellte fest, daß es trotz der vielen Methoden noch kein Verfahren gibt, mit dem man mit Sicherheit feststellen kann, ob eine Milch vorschriftsmäßig dauerpasteurisiert wurde. Wenn nun ein Verfahren allein keine volle Sicherheit der Diagnose gewährt, so läge eine Möglichkeit für eine zuverlässigere Diagnosestellung in der Kombination verschiedener Methoden, wobei die eine Methode das andere Verfahren in bestimmten Punkten ergänzt.

Und in diesem Sinne glaube ich, daß auch die nachgeprüfte Methode der Nacherhitzung dazu angetan ist, in Verbindung mit anderen Methoden ein gutes Hilfsmittel für eine gute und sichere Diagnose der Niederpasteurisierung darzustellen, und zwar ein Hilfsmittel mit dem Vorzuge, daß es nicht allzu kompliziert und in der Praxis auch leicht verwendbar ist.

Vor allem wird es notwendig werden, bei der Frage des Erhitzungsnachweises in Zukunft nicht mehr diese z. B. so zu stellen: ist die Milch eine halbe Stunde auf 63 oder 65 Grad erhitzt, oder 10 Minuten auf 70 Grad, sondern in einer Form, die sich mit dem Denaturierungsgrad befaßt: Ist die Milch einem Erhitzungsverfahren unterworfen worden, das eine Aenderung in ihr her-

vorruft, wie sie nach allgemeiner Erfahrung nach halbstündiger Erhitzung auf 60 bis 65 Grad eintritt?

2. Bei Prüfung der einzelnen Versuche der Oxydierbarkeitsprobe ergeben sich in den verschiedenen Oxydationswerten Unterschiede bei der auf verschieden hohe Temperatur erhitzten Milch. In einem Falle sind die Werte gut voneinander abgestuft, im anderen Falle dagegen sind diese Wertunterschiede sehr gering. Insbesondere ist der Gradunterschied zwischen den besonders in Frage kommenden Milcharten z. B. rohe auf 60, 65 Grad erhitzte Milch nicht so markant, daß man diesen Wert als Anhaltspunkt für den Nachweis verwerten könnte. Wie bei den anderen Methoden, so ist es auch hier schwer, bestimmte Werte als konstante Zahlen anzugeben, die dann als Norm für weitere Untersuchungen dienen könnten. Man kann also auch in diesem Falle die gefundenen Zahlen lediglich dazu verwenden, um in Kombination mit anderen Versuchen die Befunde dieser zu bestätigen oder sie als zweifelhaft erscheinen zu lassen.

Die Frage, ob man die Methode der Oxydation von organischen Substanzen als Diagnostikum für den Nachweis der Niederpasteurisierung verwenden kann, muß daher bis zu einer weiteren gründlichen Prüfung offen gelassen werden.

Zum Schlusse der Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, dem Vorstand des Tierhygienischen Instituts, Herrn Professor Dr. Wilhelm Ernst, für die Ueberweisung der Arbeit und für die bei der Ausführung derselben freundlichst gewährte Unterstützung meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

1. Arnold C.: Anleitung zur qualitativen Analyse, Hannover 1905, S. 161.
2. Bengen F. M.: Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel, 66. Jahrgang, 1933, Seite 126 bis 133. „Ueber den Nachweis der Dauerpasteurisierung".
3. Ernst W.: Grundriß der Milchhygiene für Tierärzte, 2. Auflage, 1926, Seite 122.
4. Gotschlich: Handbuch der hygienischen Untersuchungsmethoden, Band I, Jena 1926, Seite 927.
5. Hekma A.: Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene, 38. Jahrgang, 1928, Seite 195 bis 196. „Neue Methode zur Untersuchung roher und gekochter Milch".
6. Hock R.: Milchwirtschaftliches Zentralblatt, 58. Jahrgang, 1929, Seite 309 bis 311.
7. Klostermann und Schneck: Milchwirtschaftliches Zentralblatt, 62. Jahrgang, 1933, Seite 365 bis 368. „Versuche zum Nachweis der Dauerpasteurisierung nach der Methode Umbrecht und Vogt".
8. Kuhlmann H.: Zeitschrift für Infektionskrankheiten, parasitäre Krankheiten und Hygiene der Haustiere, 46. Jahrgang, 1934, Seite 261 bis 284. „Der biologische Nachweis der Dauererhitzung der Milch".
9. Koning C. G.: Milchwirtschaftliches Zentralblatt, Dritter Jahrgang 1907, Seite 41 bis 69 und Seite 235 bis 261. „Biologische und biochemische Studien über die Milch".
10. Meyer A.: Inauguraldissertation München 1931. „Zur Frage des Nachweises der Niedererhitzung der Milch mit besonderer Berücksichtigung der Amylasenreaktion".
11. Orla-Jensen: Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel, 63. Band, 1932, Seite 300 bis 308. „Proben zur Feststellung des Erhitzungsgrades der Milch".
12. Pfyl und Turnau: Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt, 1912, Seite 245 bis 304. „Ueber verbesserte Herstellung von Milchseren und ihre Anwendbarkeit zur Untersuchung der Milch".
13. Reichsgesetzblatt I: Nr. 35 vom 8. August 1930.
14. Reichsgesetzblatt I: Nr. 19 vom 22. Mai 1931.
15. Reichsviehseuchengesetz vom 26. Juni 1909. Textausgabe mit Sachregister 1912.
16. Renner Fr.: Inauguraldissertation München 1932: „Die Brauchbarkeit der Schardinger-Reaktion zum Nachweis der Dauererhitzung der Milch".
17. Rothenfußer S.: Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel, 60. Band, 1930, Seite 94 bis 108. „Ueber den Nachweis einer Erhitzung der Milch und ein neues Verfahren zum Nachweis der Dauerpasteurisierung".

18. Schardinger Franz: Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel, 1902, Seite 1113 bis 1121. „Ueber das Verhalten der Kuhmilch gegenüber Methylenblau und seine Verwendung zur Unterscheidung von ungekochter und gekochter Milch."

19. Schern und Gorli: Berliner Tierärztliche Wochenschrift, 46. Jahrgang, 1930, Seite 893 bis 895. „Zur Unterscheidung roher, pasteurisierter und gekochter Milch uruguayischer Kühe".

20. Seberich J.: Inauguraldissertation München, 1931. „Zur Frage des Nachweises der Niedererhitzung der Milch mit Hilfe eines besonders eingestellten Schardinger-Reagenses".

21. Umbrecht und Vogt: Süddeutsche Molkereizeitung, 54. Jahrgang, 1933, Seite 605 bis 606. „Ueber eine neue Methode zum Nachweis der Dauererhitzung der Milch in der Praxis unter besonderer Berücksichtigung der Erfordernisse der Serenuntersuchung".

22. Wedemann W.: Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene, 34. Jahrgang, 1924, Seite 170 bis 172. „Nachweis erhitzter Milch, gewässerter Milch, Kolostral- und pathologisch veränderter Milch mit Hilfe von Tetraseren nach Pfyl und Turnau".

23. Weigmann: Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene, 40. Jahrgang, 1930, Seite 436. „Eine Beobachtung über die Aufrahmung dauerpasteurisierter Milch".

24. Weinstein P.: Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel, Band 56, 1928, Seite 457 bis 467. „Nachweis des Erhitzungsgrades der Milch".

25. Zeller H.: Münchener Tierärztliche Wochenschrift, 86. Jahrgang, Nr. 17, 1935, Seite 193 bis 199. „Ueber den Nachweis der Dauerpasteurisierung der Milch".

26. Zeller, Wedemann, Lange und Gildemeister: Sonderheft der Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene, 38. Jahrgang, 1928. „Ueber die sogenannte niedrige Dauerpasteurisierung der Milch mit besonderer Berücksichtigung der Abtötung von Seuchenerregern".

27. Reichsministerialblatt vom 28. November 1930, Seite 667.

Lebenslauf.

Am 2. Januar 1912 wurde ich, Thomas Fürbacher, in Weiden als Sohn des Wagenmeisters Johann Fürbacher und seiner Ehefrau Maria Fürbacher, geborene Hagn, geboren.

Ich besuchte von 1918 bis 1922 die Volkshauptschule in Nürnberg, trat dann in das humanistische Neue Gymnasium in Nürnberg über, welches ich im März 1931 absolvierte. Sodann widmete ich mich dem Studium der Veterinärmedizin an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität in München, und an der Tierärztlichen Hochschule in Wien.

Im Jahre 1932/33 unterzog ich mich den beiden Teilen der tierärztlichen Vorprüfung und legte im Herbst 1935 das veterinärmedizinische Staatsexamen ab. Vom April 1935 bis Januar 1936 beschäftigte ich mich mit den Versuchen für vorliegende Dissertation am Tierhygienischen Institut. Seit 1. Januar 1936 praktiziere ich am Städtischen Schlacht- und Viehhof in Nürnberg.

Nürnberg, den 5. Februar 1936.

Thomas Fürbacher.